

Diferencias en la determinación del grado de malignidad entre las citologías y las biopsias en los mastocitomas caninos

El artículo trata de establecer las diferencias existentes en el diagnóstico de los mastocitomas a la hora de comparar una citología con una biopsia. La reclasificación mediante la biopsia de mastocitomas grado I como grado II debido a la infiltración en el tejido adyacente y el diagnóstico mastocitomas de grado III que no lo habían sido mediante citología, fueron las diferencias más significativas. En conclusión, la citología, aunque de indudable valor, no puede sustituir a la biopsia en el diagnóstico de los mastocitomas caninos.

Palabras clave: mastocitoma, citología, biopsia.
Clin. Vet. Peq. Anim, 29 (3): 159-163, 2009

A. I. Nieto

Anapath. Laboratorio de
Anatomía Patológica
C/ Nervión s/n
18015 Granada

Introducción

Los mastocitomas son uno de los tumores más frecuentes que aparecen en la dermis y el tejido conjuntivo subcutáneo de los perros, suponiendo entre el 10 y el 15% de todos los tumores de la piel^{1,2}.

En cuanto a su etiopatogenia, los mastocitos, cuya versión tumoral constituye los mastocitomas, tienen su origen en las células madre hematopoyéticas CD34⁺ que se originan en la médula ósea y que se mueven hacia diferentes tejidos en los que maduran. Además de en la piel, también se encuentran en gran cantidad en el aparato gastrointestinal y en el pulmón. Sin embargo, la aparición de mastocitomas en estos últimos órganos es poco frecuente. Estas células maduran desde sus precursores gracias a un factor de células madre llamado c-kit. Así, aunque existen diferentes factores incluidos en la etiología de los mastocitomas, son las mutaciones en el protooncogen c-kit las que parecen asociadas en mayor medida a una pérdida de la diferenciación y, por tanto, a un aumento de la malignidad celular, de las recurrencias y una menor supervivencia^{3,4}.

Los mastocitos presentan el citoplasma ocupado por gránulos de sustancias de distinta naturaleza, entre las que se incluyen histamina y serotonina, enzimas, proteoglicanos o citoquinas. Algunos de estos factores son quimiotácticos, provocando la atracción de otras células como los eosinófilos, que aparecen en muchas ocasiones junto con los mastocitos en los mastocitomas. Por otro lado, su liberación como consecuencia de una palpación excesiva o un traumatismo de la masa tumoral puede dar lugar a la aparición de algunos de los signos clínicos observados a nivel local como edema, ulceración, inflamación o incluso hemorragias. Las enzimas proteolíticas de los gránulos pueden inhibir la cicatrización. Así mismo, la elevación de las concentraciones de histaminas en la sangre en perros con mastocitomas puede dar lugar a edema generalizado, alteración de la coagulabilidad, hipotensión y úlceras gastrointestinales que pueden desencadenar en anemias. Todos ellos son signos que nos pueden ayudar a la hora del diagnóstico^{1,5}.

Clínicamente, suelen ser masas solitarias, pero también pueden aparecer como masas de distribución multicéntrica (10-15% de los casos⁶). Pueden estar localizados en cualquier parte del cuerpo; aunque son más frecuentes en el tronco, seguido por la cabeza y las patas⁵. Otras localizaciones, como diseminados sin masa cutánea, gastrointestinales,



oral, nasal o en la conjuntiva son raras. Algunas localizaciones, como entre los dedos, en la mucosa, inguinales o genitales, presentan un comportamiento más agresivo⁵. Estos nódulos, cuyo tamaño puede estar entre algunos milímetros hasta varios centímetros, suelen estar recubiertos de una epidermis alopecica, enrojecida y en ocasiones edematosa e incluso ulcerada¹. Se pueden localizar a nivel de la dermis, moviéndose junto con la piel cuando lo palpamos; o a nivel subcutáneo, de manera que la piel se moverá sobre el nódulo⁶. El grado y la malignidad vienen también determinados por la invasión del tejido conjuntivo subcutáneo llegando, si el tipo de crecimiento es muy infiltrativo, hasta el músculo.

Aunque ocurre en todas las razas, suelen ser más prevalentes en animales braquicéfalos y Golden Retriever. El Boxer es una raza con alta incidencia de mastocitomas, sin embargo, estos suelen ser de bajo grado y tener un pronóstico favorable. Otras muchas razas también presentan un mayor riesgo de tener mastocitomas como los labradores, Shar-pei, Scottish Terrier o Basset Hound^{2,5,6}. Incluso se ha descrito una mayor tendencia a localizarse los mastocitomas en diferentes partes del cuerpo en función de la raza, como por ejemplo, presencia de masas en las patas traseras en Boxer, Boston Terrier o Pugs entre otros, en la cabeza de Setter ingleses o en la cola de Rhodesian².

En cuanto a la edad, como en muchas otras neoplasias, la media se sitúa en torno a 8,5-9,5 años, aunque pueden aparecer hasta en animales de 4 meses^{1,5}. No parece existir predilección por el sexo.

En relación al diagnóstico, la citología es una técnica simple que, realizada previa a la cirugía, puede permitirnos diferenciar una inflamación de una neoplasia y con frecuencia, indicarnos el origen y el potencial de malignidad del tumor⁷. Por otro lado, en el caso de los mastocitomas, lo observado en una citología puede condicionar el tipo y la extensión del tratamiento quirúrgico. Según algunos estudios, entre el 92% y el 96% de las citologías diagnosticadas como mastocitomas, se confirman después histológicamente⁸. Sin embargo, aunque mediante una citología se pueda llegar al diagnóstico, en ellas el grado sólo puede establecerse en función de las características celulares como la presencia de gránulos en el citoplasma que indicarían el grado de diferenciación, el tamaño nuclear y el pleomorfismo celular⁸.

El objetivo de este trabajo es conocer el grado de correlación existente a la hora de establecer el diagnóstico y el grado entre las citologías realizadas en mastocitomas y el diagnóstico realizado mediante una biopsia.

Material y métodos

En nuestro laboratorio hemos recibido 27 mastocitomas en los que hemos podido establecer una correlación entre

las citologías obtenidas previamente a la cirugía mediante punción con aguja fina, y las muestras procesadas para hacer el estudio de la biopsia. A la hora de realizar la citología, se eligió el área que presentaba menos edema para evitar un fenómeno de dilución celular.

Las citologías se tiñeron mediante una tinción rápida (Diff-Quik), por ser este el método de tinción más rápido y utilizado en la clínica veterinaria diaria. Se procuró que las muestras permanecieran el menor tiempo posible en el fijador, para evitar la decoloración de los gránulos que dificultarían el diagnóstico y la gradación del tumor.

Las preparaciones histológicas se realizaron siguiendo las técnicas rutinarias de procesado y se realizaron las tinciones de hematoxilina-eosina y Azul de Toluidina para poner en evidencia la presencia de gránulos gracias a las propiedades metacromáticas de estos (se tiñen de púrpura con esta tinción).

En las citologías, el diagnóstico y el grado (I, II o III) se estableció en función de la morfología celular y nuclear cuando éstos eran visibles, la presencia de gránulos en los citoplasmas y la presencia de eosinófilos en la extensión celular. En el caso de las biopsias, se clasificaron también según estos mismos criterios, pero además, se tuvo en cuenta el grado de infiltración en el tejido adyacente y el número de mitosis, que en el caso de una citología son mucho más difíciles de encontrar^{9,10}.

Resultados

El rango de edad de los animales con mastocitomas se situó entre 4 y 12 años siendo animales de ambos sexos y razas variadas. En cuanto a la localización, en la mayoría de los casos se trató de una masa a nivel subcutáneo y en 11 casos estuvo localizada en las extremidades. Otras localizaciones fueron tronco (6 casos), cabeza (5), cola/periné (2), un caso nasal y otro en la mama. En uno de los pacientes, la distribución de los nódulos fue múltiple.

Mediante el estudio de las citologías, 12 se clasificaron como mastocitomas de grado I, ya que presentaban numerosas células con presencia de gránulos en el citoplasma y el grado de pleomorfismo celular era reducido. También se observaban eosinófilos a lo largo de la extensión. En 5 casos, las citologías se clasificaron como de grado II al aparecer células con presencia de gránulos azulados, pero también muchas células sin estos gránulos. El pleomorfismo celular fue superior al encontrado en las citologías de grado I. Por último, 3 citologías se clasificaron como grado III. En este caso, la presencia de eosinófilos junto con algunas células con gránulos, orientó el diagnóstico hacia un mastocitoma. Las células presentaban un mayor pleomorfismo con anisocitosis y anisocariosis marcadas.

Cuando se realizó el estudio histopatológico de las muestras remitidas, la clasificación fue de 7 como grado

I, 11 como grado II y 9 como grado III. Las discrepancias fueron, sobre todo, entre los grados I y II. De los 12 tumores clasificados como grado I, 5 fueron reclasificados histológicamente como grado II, teniendo en cuenta su grado de infiltración en el tejido adyacente y la destrucción del tejido conjuntivo del estroma tumoral. El índice mitótico fue moderado. Por otro lado, una citología que luego correspondió con un mastocitoma grado II fue inicialmente diagnosticada de histiocitoma probablemente debido a la pérdida de coloración de los gránulos de las células por el tipo de tinción.

Por último, de los 9 casos de mastocitomas clasificados como grado III histológicamente, sólo 3 habían sido diagnosticados mediante citología. El resto, lo habían sido como histiocitomas malignos, linfoma cutáneo o plasmocitomas. En este caso, el grado de infiltración fue elevado y el diagnóstico histopatológico requirió la tinción de Azul de Toluidina para poner en evidencia la presencia de gránulos solamente en algunas células. El índice mitótico también fue superior al encontrado en los de tipo II.

En todos los casos se realizó un análisis de los bordes de la muestra tumoral para poder establecer el pronóstico. En la mayoría de los animales con mastocitomas de grado III (6 de 9 casos), la presencia de células tumorales se extendió hasta los bordes de la muestra. Por ello, en el informe anatomopatológico, se señaló la posible aparición de recidivas si no se volvía a intervenir quirúrgicamente o se realizaba un tratamiento con quimioterapia o radioterapia. También en aquellos mastocitomas de grado II con mayor grado de infiltración se observaron células en los bordes de la muestra histológica.

Discusión

Como en otros tumores, un diagnóstico precoz de los mastocitomas junto con un tratamiento rápido y correcto, mejora el pronóstico del animal. Por ello, en la mayoría de los tumores cutáneos que son de fácil acceso, una citología puede ser de gran ayuda en la clínica diaria a la hora de la toma de decisiones en el tratamiento y también en la cirugía¹¹; pero por otro lado, es necesario conocer hasta dónde una citología puede ser representativa del tumor y su diagnóstico. En el caso del mastocitoma, se trata de un tumor del que se pueden obtener muchas células en una citología; ya que, a diferencia de otros tumores de estirpe mesenquimal, sus células tienen poca adherencia y esto nos va a facilitar el diagnóstico.

Sin embargo, aunque la citología nos informa sobre el grado de diferenciación y el pleomorfismo celular, en ocasiones falla a la hora de determinar otros datos importantes. Por ejemplo, el índice de mitosis se ha revelado como un factor pronóstico esencial para conocer el comportamiento de los mastocitomas y la supervivencia total^{12,13}. Pero este índice, que es sencillo de calcular mediante una preparación histológica, es difícil en una

citología, ya que el número de células no es el suficiente (se establece como punto de corte 5 mitosis por 10 campos de 400x, lo que supone un elevado número de células tumorales a valorar).

Por otro lado, la clasificación histológica de los mastocitomas en función del grado resulta en ocasiones complicada, dada la existencia de diferencias entre partes de una misma muestra¹⁴. Por ello, podemos encontrar discrepancias en el diagnóstico entre diferentes anatomopatólogos, que suelen elegir el grado más elevado como el representativo del tumor. Este hecho no es posible de determinar en el caso de las citologías. Además, es necesario realizar la gradación siguiendo siempre el mismo criterio (en general, el establecido por Patnaik y col, 1984⁹) para que los resultados sean comparables.

En este trabajo, hemos utilizado la tinción rápida de Diff-Quik para las citologías. Aunque es sabido que esta no es la técnica más correcta para poner en evidencia los gránulos de los mastocitos (es preferible la técnica de Giemsa)¹¹, es la más frecuente a la hora de realizar las citologías, por lo que hemos considerado que debía ser la utilizada aquí. Cuando los mastocitomas son de grado I no suele haber confusión, sin embargo, en nuestro trabajo, podemos achacar un error en un mastocitoma de grado II al tipo de tinción.

Aunque todos los mastocitomas son potencialmente malignos y muchos de ellos metastatizan a los ganglios linfáticos, esta posibilidad es más elevada en los de tipo III, especialmente debido a que se trata de tumores con un crecimiento infiltrativo y con un mayor acceso a vasos linfáticos^{5,10}. Y son precisamente éstos los que mayor problema presentan a la hora de realizar un diagnóstico mediante citología. En nuestro caso, sólo 3 de los 9 mastocitomas de grado III diagnosticados mediante biopsia, lo fueron también mediante citología. Además, en este caso es esencial conocer el grado de infiltración y la presencia de márgenes quirúrgicos en la resección del tumor.

En el estudio histológico de los mastocitomas de grado III a veces es necesario utilizar técnicas especiales, como la de coloración con Azul de Toluidina, para identificar la presencia de gránulos en el citoplasma. En ellos encontramos pocas células con gránulos de color púrpura en su citoplasma porque la mayoría son células indiferenciadas, sin las características típicas de los mastocitos, lo que constituye un criterio de malignidad citológica añadido.

En conclusión, la realización de citologías en los mastocitomas es importante porque, además de ser un método sencillo de realizar en la clínica, nos orienta sobre el diagnóstico y el tratamiento más o menos agresivo a seguir en la extirpación del tumor. Sin embargo, no puede sustituir a la realización de una biopsia a la hora de establecer el diagnóstico definitivo y, sobre todo, el pronóstico de la enfermedad.

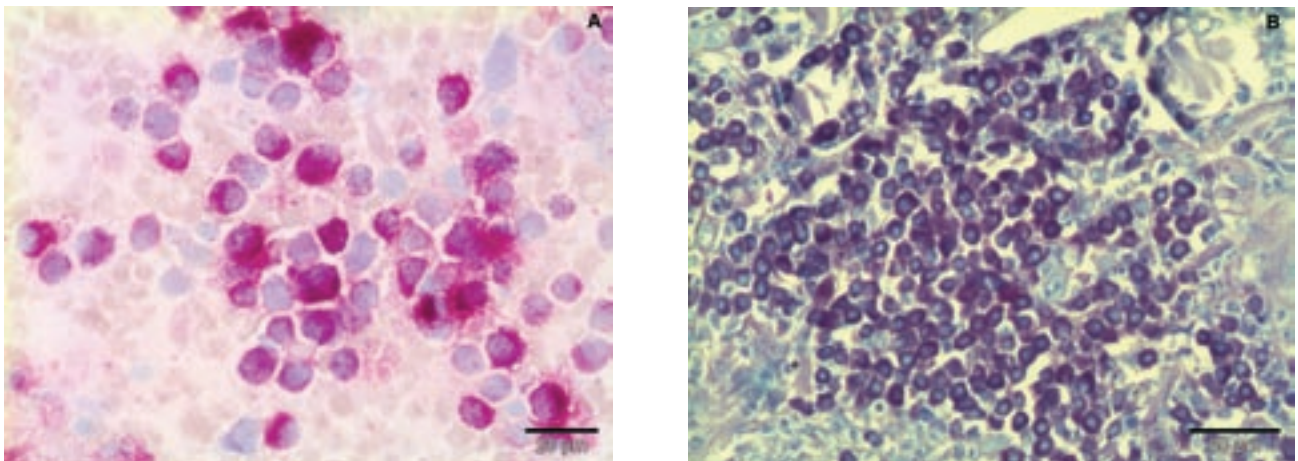


Figura 1. Mastocitoma grado I. A Citología. B Histología (tinción de Azul de Toluidina). La mayoría de las células son positivas a esta tinción, que pone en evidencia la metacromasia de los gránulos de los mastocitos.

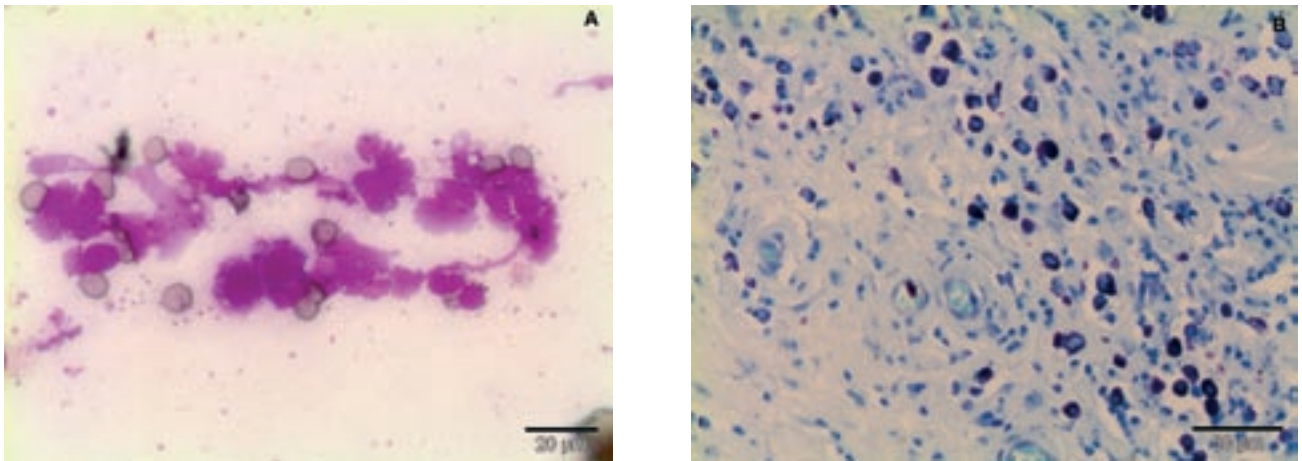


Figura 2. Mastocitoma grado II. A. Citología; mayor grado de anisocariosis y anisocitosis y presencia de algunas células sin gránulos. B. Histología (tinción de Azul de Toluidina). Aumento del grado de infiltración con respecto a los mastocitomas de grado I y un menor número de células positivas a Azul de Toluidina.

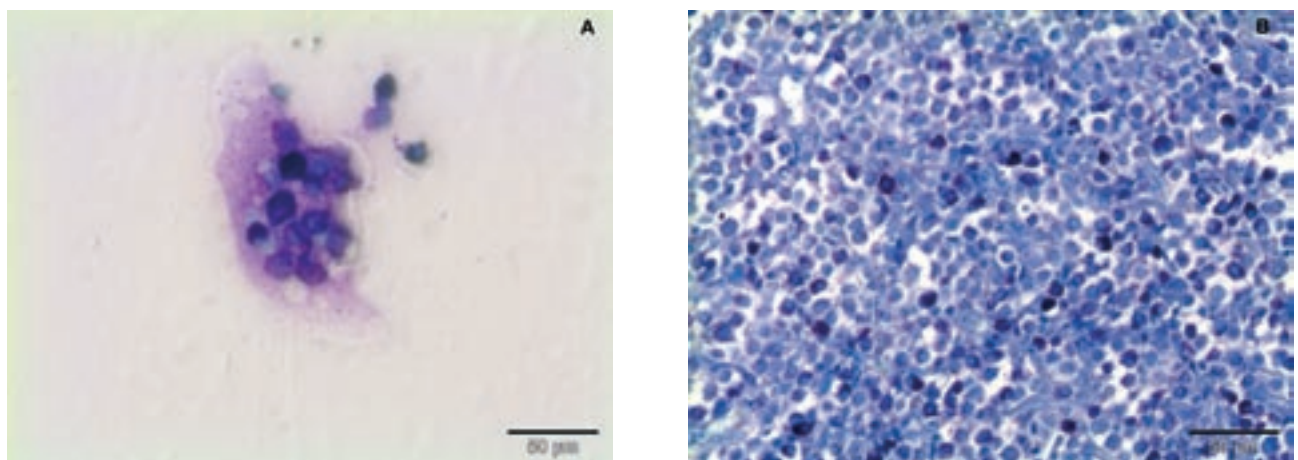


Figura 2. Mastocitoma grado III. A Citología. Pleomorfismo celular y nuclear y pocas células con presencia de gránulos en el citoplasma. B Histología (tinción de Azul de Toluidina). Obsérvese el escaso número de células teñidas con Azul de Toluidina.

Title

Differences in the malignance grade established between fine-needle aspiration cytologies and biopsies in canine mast cell tumours

Summary

The aim of the present study is to know the relationship between fine-needle aspiration cytology (FNAC) and a biopsy in order to establish the diagnosis and grade of mast cell tumours. We have used 27 cutaneous nodules histologically diagnosed as mast cell tumours where we have also the FNAC to compare. The FNAC were stained with Diff-Quik and in the biopsies, a Toluidin Blue stain was used to show the presence of intracytoplasmic granules. The disagreement was especially found between grade I and II. Five of 12 tumours classified as grade I with FNAC was classified as grade II histologically take into account the destruction and extension into the conjunctive tissue of tumoral mastocytes. However, 6 mast cell tumours classified as grade III in the biopsy specimen, only 3 had been correctly diagnosed. The rest was diagnosed as malignant histiocytoma, cutaneous lymphoma and plasmacytoma. In conclusion, the FNAC can not replace the biopsy in order to establish the definitive diagnosis and the prognosis of the mast cell tumours.

Key words: mast cell tumours, fine-needle aspiration cytology, biopsy.

Bibliografía

1. Gross TL, Inrke PJ, Walter EJ, Affolter VK: Mast cell tumors. En Gross TL, Inrke PJ, Walter EJ, Affolter VK (eds): Skin disease of the dog and cat, Oxford, Blackwell Science Ltd, 2005; 853-856.
2. Goldschmidt MH, Shofer FS: Canine mast cell tumors. En Butterworth-Heinemann (ed): Skin tumors in the dog and cat, Oxford, Pergamon Press, 1992; 231-251.
3. Zemke D, Yamini B, Yuzbasiyan-Gurkan V: Mutations in the yuxtamembrane domain of *c-kit* are associated with higher grade mast cell tumors in dogs. *Vet Pathol* 2002; 39: 529-525.
4. Kiupel M, Webster JD, Kaeene Jb et al. The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Pathol* 2004; 41:371-377.
5. Rabanal R, Ferrer L: Mast cell tumours: From the molecular biology to the clinic. In Proceeding of the ISVD Meeting, Nice, 2002: 11-26.
6. Ettinger SJ, Feldman EC: Mast cell disease. En Fathman L (ed): Textbook of Veterinary Internal Medicine, Missouri, Elsevier Saunders, 2005: 773-778.
7. Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH: Cutaneous and subcutaneous lesions: Masses, cysts, ulcers, and fistulous tracts. En Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH (eds): Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat, St Louis, Mosby Inc 1999: 33-36.
8. Welle MM, Rohrer Bley C, Howard J, Rufenacht S: Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Vet Dermatol* 2008; 19(6):321-339.
9. Patnaik AK, Ehler WJ, MacEwen EG: Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Vet Pathol* 1984; 21(5): 469-474.
10. Preziosi R, Sarli G, Paltrinieri M.: Multivariate survival analysis of histological parameters and clinical presentation in canine cutaneous mast cell tumours. *Vet Res Commun* 2007; 31(3):287-296.
11. Nelson RW, Couto CG: Tumores de células cebadas canino. En Sherding RG (ed.): Medicina interna de pequeños animales, Buenos Aires, Mosby Inc, 1998; 1226-1229.
12. Romansik EM, Reilly CM, Kass PH, Moore PF, London CA: Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol* 2007; 44:335-341.
13. Elston LB, Sueiro FA, Cavalcanti JN, Metze K: The importance of the mitotic index as a prognostic factor for survival of canine cutaneous mast cell tumors: A validation study. *Vet Pathol* 2009; 46(2):362-364.
14. Northrup NC, Howerth EW, Harmon BG, et al: Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *J Vet Diagn Invest* 2005; 17:561-564.



¡El punto de encuentro de veterinarios en Europa!

1-4 Octubre 2009

Barcelona, España

Organizado por:



**PROGRAMA GENERAL
CIENTÍFICO**
3 días

EXPOSICIÓN COMERCIAL
Más de 100 Empresas

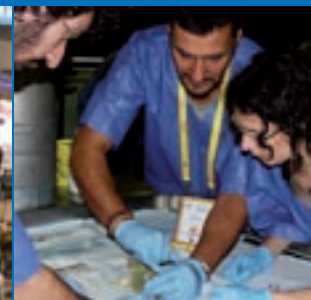
TALLERES

**PROGRAMA INTERNACIONAL
DE ATV'S**
2 días y medio

**TRADUCCIÓN SIMULTÁNEA
EN TODAS LAS SALAS**

**PROGRAMA DE GESTIÓN
DE LA CLÍNICA**
2 días y medio

“GRAND SEVC FIESTA”!
No te la pierdas



www.sevc.info